

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **045639**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2023.12.13**

(51) Int. Cl. *A61K 31/7048* (2006.01)  
*A61K 36/22* (2006.01)

(21) Номер заявки  
**202191594**

(22) Дата подачи заявки  
**2018.12.07**

---

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОЙ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ МАНГИФЕРИН,  
ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ СПОРТИВНОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ**

---

(43) **2022.01.20**

(56) WO-A2-2018025080  
US-A1-2018021397

(86) PCT/EP2018/084023

(87) WO 2020/114613 2020.06.11

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**НЕКТИУМ ФАРМА, С.Л. (ES)**

(72) Изобретатель:  
**Вибе Юлия, Хименес Дель Рио  
Мигель, Герике Найджел, Кальбет  
Хосе (ES)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) Настоящее изобретение относится к нетерапевтическому применению состава, содержащего эффективное количество мангиферина в комбинации с эффективным количеством активного ингредиента, выбранного из группы, состоящей из лютеолина, кверцетина, этилацетатного экстракта клубней *Syperus esculentus* и их смесей; для повышения выходной мощности.

**B1**

**045639**

**045639**

**B1**

### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к применению растительного состава, содержащего мангиферин, для улучшения работоспособности у атлета, спортсмена или тренирующегося во время нагрузки за счет увеличения пиковой выходной мощности атлета, спортсмена или тренирующегося; средней мощности, выдаваемой атлетом, спортсменом или тренирующимся; оксигенации тканей у атлета, спортсмена или тренирующегося или пикового потребления кислорода атлетом, спортсменом или тренирующимся.

### **Уровень техники**

Усталость представляет собой сложный процесс, который может возникать в любой структуре, которая участвует в производстве и контроле мышечных сокращений. Соединения, повышающие работоспособность, могут оказывать свое действие, облегчая снабжение и использование энергии, ослабляя центральное управление и моторный контроль и уменьшая негативные эффекты, вызванные истощением энергии, нехваткой O<sub>2</sub>, накоплением метаболитов и активными формами кислорода и азота (АФКА), на генерацию силы, активацию сокращения мышц и афферентную обратную связь. Полагают, что полифенолы обладают свойствами, улучшающими спортивную работоспособность. Полифенолы могут действовать как антиоксиданты, сигнальные молекулы или обладать противовоспалительными, омолаживающими, нейромодулирующими или нейропротекторными свойствами, что может предоставлять их эргогенический потенциал. Большинство из этих эффектов было продемонстрировано только на клеточных культурах или на животных моделях с высокими дозами.

Активные радикалы кислорода и азота образуются во время спринта, при этом образование гидроксильных радикалов, катализируемое железом, ускоряется за счет подкисления из-за высоких скоростей гликолиза, достигнутых во время спринта. Ацидоз ускоряет выработку гидроксильных радикалов и снижает активность антиоксидантных ферментов. Соединения, которые уменьшают образование гидроксильных радикалов, могут улучшить работоспособность во время физических упражнений.

Эргогенический потенциал полифенолов лютеолина и мангиферина остается неизвестным, и влияние кверцетина на работоспособность во время повторяющихся длительных спринтов с максимальной интенсивностью еще предстоит изучить на людях. Мангиферин (2-β-D-глюкопиранозил-1,3,6,7-тетрагидроксиксантон) представляет собой нефлавоноидный полифенол, содержащийся в листьях манго и других растениях. Мангиферин защищает от образования свободных радикалов благодаря своим свойствам хелатного железа. Мангиферин может преодолевать гематоэнцефалический барьер и модулировать нейротрансмиссию. Остается неизвестным, ослабляет ли мангиферин эффекты ишемии/реперфузии у людей.

Кверцетин представляет собой флавоноидный полифенол, обнаруженный в некоторых фруктах и овощах, включая манго. Хотя кверцетин имеет низкую биодоступность вследствие его плохой абсорбции в кишечнике, это можно улучшить с помощью маслянистого наполнителя, такого как экстракт земляного миндаля, который богат глицероловыми эфирами жирных кислот. Кверцетин, как и мангиферин, представляет собой фитостероид, способный активировать рецепторы эстрогена.

Лютеолин (30,40,50,70-тетрагидроксифлавонол) представляет собой флавоноид и подобно мангиферину и кверцетину является мощным антиоксидантом и ингибитором ксантиноксидазы. Лютеолин также является ингибитором НАДФН (никотинамидадениндинуклеотидфосфат)-оксидазы.

На сегодняшний день ни одно исследование не определило эффективность природных полифенолов в смягчении ухудшения сократительной функции скелетных мышц после кратковременной ишемии/реперфузии у людей. Раскрытая в настоящем описании цель относится к применению мангиферина, вводимого с кверцетином, экстрактом земляного миндаля и/или лютеолином, для обеспечения эффекта повышения работоспособности у мужчин и женщин во время упражнений или физической нагрузки. Раскрытая в настоящем описании цель относится к применению растительных составов, содержащих мангиферин, для смягчения повреждений при ишемии/реперфузии мышечной ткани во время нагрузки.

Цели дают представление о задачах, которые могут быть решены с помощью различных вариантов осуществления, раскрытых в настоящем описании, и не предназначены для ограничения возможных преимуществ, которые могут быть реализованы. Таким образом, эти и другие цели и преимущества различных примерных вариантов осуществления будут очевидны из описания, приведенного в настоящей заявке, или могут быть изучены из практического применения раскрытых вариантов осуществления или как описанных в настоящей заявке, или как модифицированных с учетом любых изменений, которые могут быть очевидны специалисту в данной области техники. Соответственно, настоящее изобретение заключается в новых способах, вариантах, комбинациях и усовершенствованиях, показанных и описанных в настоящей заявке.

### **Краткое описание изобретения**

В свете существующей потребности в безопасных способах улучшения спортивной работоспособности настоящее изобретение относится к нетерапевтическому применению состава, содержащего эффективное количество мангиферина в комбинации с эффективным количеством активного ингредиента, выбранного из группы, состоящей из лютеолина, кверцетина, этилацетатного экстракта клубней *Suregu eslcuentus* и их смесей; для повышения выходной мощности.

В предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, состав дополнительно содержит носитель.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося.

Предпочтительно указанный состав содержит

от 5 частей до 1000 частей мангиферина в комбинации с любым из:

от 2 до 1000 частей лютеолина,

от 20 до 2000 частей кверцетина,

от 1 до 1000 частей этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus* или с их смесями и необязательно носитель.

В другом предпочтительном варианте указанный состав содержит

от 50 мг до 5000 мг мангиферина в комбинации с любым из:

от 10 мг до 5000 мг лютеолина;

от 100 мг до 10 г кверцетина;

от 50 мг до 5000 мг этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus*

или с их смесями

и необязательно носитель.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, описанный выше состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося и в котором указанный атлет, спортсмен или тренирующийся является женщиной.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, указанный состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося, в котором выходная мощность измеряется исходя из пиковой выходной мощности или средней выходной мощности.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, указанный состав также предназначен для повышения оксигенации лобных долей головного мозга или пикового потребления кислорода у атлета, спортсмена или тренирующегося женского пола.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, указанный состав также предназначен для смягчения влияния повреждения при ишемии/реперфузии.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, указанный состав также предназначен для смягчения влияния повреждения при ишемии/реперфузии скелетных мышц.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, указанный состав содержит от 50 мг до 5000 мг мангиферина и от 10 мг до 5000 мг лютеолина.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, указанный состав содержит от 50 мг до 5000 мг мангиферина; от 100 мг до 10 г кверцетина и от 5 мг/до 5000 мг этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus*.

Предпочтительно указанный мангиферин представляет собой компонент экстракта *Mangifera indica*, при этом указанный экстракт *Mangifera indica* содержит от 10 мас.% до 90 мас.% мангиферина.

Предпочтительно указанный лютеолин представляет собой компонент экстракта *Arachis hypogaea*, при этом указанный экстракт *Arachis hypogaea* содержит от 50 мас.% до 95 мас.% лютеолина.

Предпочтительно, когда:

указанный кверцетин представляет собой компонент экстракта *Sophora japonica*, при этом указанный экстракт *Sophora japonica* содержит от 50 мас.% до 95 мас.% кверцетина; и

указанный этилацетатный экстракт клубней *Cyperus esculentus* содержит глиceryловые эфиры олеиновой кислоты, глиceryловые эфиры линолевой кислоты или их комбинацию;

фитостерины;

флавоноиды и

их смеси.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, указанный состав представляет собой единичную лекарственную форму для однократного введения.

В другом предпочтительном варианте осуществления, раскрытом в настоящем описании, указанный состав представляет собой множественные лекарственные формы, которые являются такими, что первая лекарственная форма содержит мангиферин и вторая лекарственная форма содержит лютеолин, кверцетин, этилацетатный экстракт клубней *Cyperus esculentus* или их смесь.

#### Фигуры

Фиг. 1. Показывает экспериментальный протокол для измерения влияния составов экстрактов мангиферина на спортивную работоспособность.

Фиг. 2. Показывает пиковую выходную мощность ( $W_{peak}$ ), наблюдаемую во время экспериментального протокола фиг. 1.

Фиг. 3. Показывает среднюю выходную мощность ( $W_{mean}$ ), наблюдаемую во время эксперимен-

тального протокола фиг. 1.

Фиг. 4. Показывает оксигенацию головного мозга (индекс оксигенации ткани лобных долей: TOI (%)), наблюдаемую во время экспериментального протокола фиг. 1. Пунктирные линии представляют значения, зарегистрированные в состоянии покоя.

Фиг. 5. Показывает индекс оксигенации латеральной широкой мышцы бедра (%), наблюдаемый во время экспериментального протокола фиг. 1. Пунктирные линии представляют значения, зарегистрированные в состоянии покоя. Точечные линии представляют значения, наблюдаемые в течение последних 5 с ишемии после спринта 3, т. е. значение, соответствующее "нулевой оксигенации".

Фиг. 6. Экспериментальный протокол для измерения влияния составов экстрактов мангиферина и лютеолина на спортивную работоспособность.

Фиг. 7. Работоспособность во время спринта после приема полифенолов (лютеолин+мангиферин) или плацебо. А) Пиковая выходная мощность через 15 с спринта, проводимого после ишемии. В) Средняя выходная мощность в течение первых 5 с во время спринта, проводимого после ишемии. SIE: первый спринт после постепенно возрастающей нагрузки, SSIE: второй спринт после постепенно возрастающей нагрузки. Цифра 1 означает через 48 ч и 2 - через 15 дней введения добавок. С) Средняя выходная мощность во время 30 с теста Вингейта. WG: тест Вингейта, первое число представляет порядковый номер Вингейта (1, 2 или 3), второе число (1 или 2) обозначает через 48 ч и 2 через 15 дней введения добавок, соответственно.  $P < 0,05$  по сравнению с 48 ч тестом при том же условии.  $SP < 0,05$  для лечебного эффекта. ANOVA Wingate  $\times$  время  $\times$  лечение,  $P = 0,027$ .  $N = 12$ .

Фиг. 8. Индекс оксигенации лобных долей (TOI) во время первых двух 30 с тестов Вингейта после приема полифенолов (лютеолин+мангиферин) или плацебо. Цифра 1 означает через 48 ч и цифра 2 - через 15 дней введения добавок.  $SP < 0,05$  для лечебного эффекта.  $N = 12$ .

Фиг. 9. Индекс оксигенации четырехглавой мышцы (TOI, среднее значение для латеральной широкой и средней мышцы бедра (%)) во время первых двух 30 с тестов Вингейта после приема полифенолов (лютеолин+мангиферин) или плацебо. Цифра 1 означает через 48 ч и цифра 2 - через 15 дней введения добавок.  $SP < 0,05$  для лечебного эффекта.  $N = 12$ .

#### Подробное описание изобретения

Используемый в настоящем описании термин "атлет" обычно относится к любому человеку, занимающемуся физическими упражнениями, занимающемуся индивидуальным видом спорта или участвующему в командном виде спорта. Термины "атлет", "спортсмен" и "тренирующийся", если не указано иначе, следует понимать, как синонимы для целей настоящего раскрытия.

Различные варианты осуществления, раскрытые в настоящем описании, относятся к добавкам, содержащим экстракт листьев манго (ЭЛМ) с высоким содержанием мангиферина. Эти добавки повышают работоспособность у людей во время нагрузки высокой интенсивности.

В различных вариантах осуществления добавки, содержащие эффективное количество мангиферина в комбинации с эффективным количеством активного ингредиента, выбранного из группы, состоящей из лютеолина, кверцетина, этилацетатного экстракта клубней *Suregas esculentus* и их смесей, увеличивают пиковую выходную мощность после ишемии скелетных мышц с последующей реперфузией. Этот эффект наблюдается как у мужчин, так и у женщин. У женщин добавки мангиферина улучшают оксигенацию головного мозга в состоянии покоя и во время нагрузки и повышают пиковое значение  $VO_2$  во время нагрузки высокой интенсивности. Экстракты мангиферина улучшают работоспособность при физических нагрузках, не приводя к значительному увеличению потребления кислорода. Более того, тенденция к лучшему мышечному выделению  $O_2$  наблюдалась во время физических нагрузок, выполняемых после ишемии/реперфузии, когда объекты принимали комбинированный ЭЛМ/кверцетин/земляной миндаль.

Две добавки, содержащие ЭЛМ, положительно повлияли на работоспособность во время физических нагрузок. Однако комбинации мангиферин/кверцетин/экстракт земляного миндаля превосходят комбинации мангиферин/лютеолин особенно в отношении влияния на выходную мощность во время нагрузки после ишемии и реперфузии скелетных мышц. Хотя лютеолин ослабляет повреждение при ишемии/реперфузии в некоторых тканях, остается неизвестным, предотвращает ли лютеолин повреждение при ишемии/реперфузии скелетных мышц. Кверцетин может защитить скелетные мышцы от повреждения при ишемии/реперфузии у грызунов, подвергшихся ишемии. Однако сообщалось, что введение добавки кверцетина в течение 1 недели в спринте на 30 метров снижает спортивную работоспособность. Настоящие данные показывают, что при введении мангиферина наблюдалось увеличение работоспособности, измеренное с точки зрения средней и пиковой выходной мощности во время физической активности, что позволяет предположить, что мангиферин может быть ответственным за влияние на выходную мощность.

Введение мангиферина в комбинации с лютеолином или кверцетином не увеличивает лактатный ответ в крови или окисление углеводов во время субмаксимальной нагрузки или другой физической нагрузки. Хотя мангиферин активирует пируватдегидрогеназу (ПДГ) в клеточных культурах, что приводит к снижению выработки лактата и увеличению окисления углеводов, изменений уровней лактата и углеводов во время нагрузки не наблюдали при комбинации мангиферина с лютеолином или кверцетином.

Энергетическая эффективность мышц снижается во время нагрузки высокой интенсивности за счет

нескольких механизмов, которые включают, среди прочего, увеличенное задействование менее эффективных мышечных волокон типа II, лактатацидоз, изменения электролитов и генерацию активных форм кислорода и азота (АФКА). Во время нагрузки высокой интенсивности вырабатываются АФКА вследствие как высокой митохондриальной дыхательной частоты, так и активации анаэробного метаболизма. АФКА могут способствовать мышечной усталости за счет снижения чувствительности к кальцию и уменьшения высвобождения кальция из саркоплазматического ретикула. Добавки мангиферина могут повышать чувствительность миофиламентов к  $Ca^{2+}$ , что может привести к увеличению выработки силы, если необходимая энергия является доступной.

Избыточная выработка АФКА может снизить митохондриальное соотношение фосфат/кислород или соотношение P/O, в то время как антиоксиданты в добавках мангиферина могут благоприятно влиять на митохондриальное увеличение соотношения P/O. Кроме того, прием антиоксидантов перед физической нагрузкой снижает уровень карбониллов белков в мышцах и плазме и снижает скорость гликолиза без отрицательного влияния на работоспособность.

Различные варианты осуществления, раскрытые в настоящем описании, относятся к применению полифенолов мангиферина, лютеолина, кверцетина и их комбинаций для нейтрализации свободных радикалов, образующихся во время физического упражнения или физической нагрузки. Три полифенола, обсуждаемые в настоящем описании, также ингибируют ксантиноксидазу. Настоящее раскрытие впервые показывает, что антиоксиданты способны увеличивать пиковую выходную мощность и среднюю выходную мощность при состоянии усталости, вызванном повторяющимися продолжительными спринтами. Таким образом, эти соединения повышают работоспособность во время занятий спортом или физического труда.

Антиоксидантные свойства полифенольных добавок, описанных в настоящей заявке, могут способствовать повышенной физической работоспособности. Однако большое количество антиоксидантов ранее не способствовало повышению пиковой выходной мощности у людей, и ни один из них не проявлял этих свойств при состоянии усталости. Чтобы повысить работоспособность утомленной мышцы, необходимо большее высвобождение кальция, чтобы увеличить количество поперечных мостиков мышечных филаментов, которые могут быть установлены, но также требуется более быстрое обратное поглощение кальция для сокращения фазы расслабления. Кофеин может увеличить силу утомленных мышц, увеличивая высвобождение  $Ca^{2+}$ , но доза, необходимая для значительного изменения работоспособности, была бы смертельной для людей. Мангиферин, основной компонент экстракта листьев манго, принимает участие в некоторых общих внутриклеточных механизмах действия с кофеином, что может способствовать высвобождению кальция при состоянии усталости (т.е., когда высвобождение  $Ca^{2+}$  подавлено). Подобно кофеину и бета-агонистам мангиферин увеличивает уровни циклического АМФ (цАМФ) и может за счет активации протеинкиназы А (PKA) стимулировать активность изоформы медленно сокращающихся скелетных мышц (SERCA). Однако в переносимых дозах кофеин не влияет на метаболизм скелетных мышц. Основным механизмом эргогенического действия кофеина является его влияние на центральную нервную систему за счет усиления мышечной активации.

Хотя кофеин может улучшить работоспособность во время продолжительной нагрузки и командных видов спорта, кофеин маловероятно повысит мощность и силу при нормальном употреблении. Более того, нет доказательств, подтверждающих эргогенический эффект кофеина во время эпизодов ишемии/реперфузии в спортивных дисциплинах. В отличие от кофеина, который может вызывать гипокалиемию у спортсменов, экстракты мангиферина/лютеолина и мангиферина/кверцетина не вызывают значительных изменений в плазме уровней кальция, калия, натрия и хлорида во время физической нагрузки.

Снижение оксигенации головного мозга связано с усталостью. Более того, при истощении во время нагрузки улучшение оксигенации головного мозга и верхней части тела за счет увеличения потребления кислорода при поддержании нижних конечностей в деоксигенированном состоянии за счет перекрытия кровообращения было связано с улучшенной работоспособностью. Это поддерживает механистическую связь между оксигенацией головного мозга и усталостью во время спринта при состоянии усталости. В различных вариантах осуществления, раскрытых в настоящем описании, добавки, содержащие мангиферин, принимаемые перед спринтом, могут противодействовать усталости у спортсменов за счет улучшения оксигенации головного мозга.

Настоящее раскрытие описывает защитные эффекты полифенольной комбинации, включая экстракт листьев манго (ЭЛМ), кверцетин и экстракт земляного миндаля, в отношении функционального ухудшения, вызванного недостаточным кровоснабжением мышечной ткани (ишемией) с последующей реперфузией крови в мышечную ткань.

Результаты, представленные в настоящем описании, показывают, что мангиферин-содержащий ЭЛМ обладает превосходным эргогеническим эффектом, увеличивая мышечную силу у утомленных объектов, без увеличения потребления кислорода, субмаксимальной эффективности нагрузки или субмаксимальных и максимальных концентраций лактата в крови. Это ожидается для соединения, действующего на центральную нервную систему. ЭЛМ в комбинации с кверцетином и экстрактом земляного миндаля способствует поддержанию функции скелетных мышц во время ишемии/реперфузии, что позволяет предположить, что эта комбинация также действует непосредственно на скелетные мышцы.

Используемые в настоящем описании термины "эффективное количество" или "доза" являются взаимозаменяемыми и могут относиться к количеству активного ингредиента, или агента, или композиции, которое вызывает биологический ответ в ткани, в системе, у животного, объекта или человека, которое подбирает исследователь, ветеринар, врач, или другой клиницист, или их любая комбинация. Биологическая реакция или ответ могут включать, например, следующее: (1) повышение спортивной работоспособности.

В контексте настоящего изобретения термин "часть" в отношении состава относится к количеству и/или массовому соотношению каждого из ингредиентов указанного состава.

В контексте настоящего изобретения выражение "острая фаза" относится к фазе введения добавок продолжительностью приблизительно 48 ч.

В контексте настоящего изобретения выражение "хроническая фаза" относится к фазе введения добавок продолжительностью приблизительно двух недель.

В контексте настоящего изобретения выражение "носитель" относится к формам, в которые включены вещества для улучшения доставки и эффективности составов лекарственных средств. Носители используются в системах доставки лекарственных средств, таких как технология с контролируемым высвобождением для продления действия лекарственных средств *in vivo*, снижения метаболизма лекарственных средств и снижения токсичности лекарственных средств. Носители также используются в конструкциях для повышения эффективности доставки лекарственных средств к целевым участкам фармакологических действий (Национальная медицинская библиотека США. Национальные институты здравоохранения). Адьювант представляет собой вещество, добавляемое в состав лекарственного препарата, которое предсказуемо влияет на действие активного ингредиента. Наполнитель представляет собой эксципиент или вещество предпочтительно без терапевтического действия, используемое в качестве среды для придания объема при введении лекарственных препаратов (Stedman's Medical Spellchecker, © 2006 Lippincott Williams & Wilkins). Такие фармацевтические носители, адьюванты или наполнители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и подобные, эксципиенты, дезагреганты, смачивающие средства или разбавители. Подходящие фармацевтические носители описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E.W. Martin. Выбор этих эксципиентов и используемых количеств будет зависеть от формы применения фармацевтической композиции.

Варианты осуществления.

1) Конкретный вариант осуществления относится к нетерапевтическому применению состава, содержащего

эффективное количество мангиферина в комбинации с эффективным количеством активного ингредиента, выбранного из группы, состоящей из лютеолина, кверцетина, этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus* и их смесей;

для повышения выходной мощности.

2) По варианту осуществления 1, состав дополнительно содержит носитель.

3) По варианту осуществления 1, состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося.

4) По вариантам осуществления 1-3, указанный состав содержит

от 5 до 1000 частей мангиферина в комбинации с любым из:

от 2 до 1000 частей лютеолина,

от 20 до 2000 частей кверцетина,

от 1 до 1000 частей этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus* или с их смесями и необязательно носитель.

5) По вариантам осуществления 1-4, указанный состав содержит

от 50 до 5000 мг мангиферина в комбинации с любым из:

от 10 до 5000 мг лютеолина;

от 100 мг до 10 г кверцетина;

от 50 до 5000 мг этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus*

или с их смесями

и необязательно носитель.

6) По вариантам осуществления 1-5, состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося и в котором указанный атлет, спортсмен или тренирующийся является женщиной.

7) По вариантам осуществления 1-6, состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося, в котором выходная мощность измеряется исходя из пиковой выходной мощности или средней выходной мощности.

8) По вариантам осуществления 1-7, состав также предназначен для повышения оксигенации лобных долей головного мозга или пикового потребления кислорода у атлета, спортсмена или тренирующегося женского пола.

9) По вариантам осуществления 1-8, состав также предназначен для смягчения влияния повреждения при ишемии/реперфузии.

10) По варианту осуществления 9, состав также предназначен для смягчения влияния повреждения при ишемии/реперфузии скелетных мышц.

11) По варианту осуществления 1, указанный состав содержит от 50 до 5000 мг мангиферина и от 10 до 5000 мг лютеолина.

12) По вариантам осуществления 1-11, в котором состав содержит от 50 до 5000 мг мангиферина; от 100 мг до 10 г кверцетина и от 5 мг/до 5000 мг этилацетатного экстракта клубней *Syperus esculentus*.

13) По вариантам осуществления 1-12, указанный мангиферин представляет собой компонент экстракта *Mangifera indica*, при этом указанный экстракт *Mangifera indica* содержит от 10 до 90 мас.% мангиферина.

14) По вариантам осуществления 1-13, указанный лютеолин представляет собой компонент экстракта *Arachis hypogaea*, при этом указанный экстракт *Arachis hypogaea* содержит от 50 до 95 мас.% лютеолина.

15) По вариантам осуществления 1-14, указанный кверцетин представляет собой компонент экстракта *Sophora japonica*, при этом указанный экстракт *Sophora japonica* содержит от 50 до 95 мас.% кверцетина; и

указанный этилацетатный экстракт клубней *Syperus esculentus* содержит: глицериды эфирные олеиновой кислоты, глицериды эфирные линолевой кислоты или их комбинацию; фитостерины; флавоноиды и их смеси.

16) По вариантам осуществления 1-15, указанный состав представляет собой единичную лекарственную форму для однократного введения.

17) По вариантам осуществления 1-15, указанный состав представляет собой множественные лекарственные формы, которые являются такими, что первая лекарственная форма содержит мангиферин и вторая лекарственная форма содержит лютеолин, кверцетин, этилацетатный экстракт клубней *Syperus esculentus* или их смесь.

### Примеры

Настоящее изобретение теперь будет описано посредством примеров, которые служат для иллюстрации конструкции и исследования иллюстративных вариантов осуществления. Однако понятно, что настоящее изобретение никоим образом не ограничивается приведенными ниже примерами.

Пример 1. Исследования на пациентах-людях: экспериментальная методика.

А. Объекты.

Данные о влиянии композиций, содержащих мангиферин, были получены от 17 мужчин и 13 женщин. Участников просили воздерживаться от интенсивных физических упражнений за 48 ч до лабораторного исследования и не пить напитки, содержащие кофеин или таурин, в течение 24 ч перед исследованием.

Табл. 1.  $W_{\text{макс}}$ , максимальная интенсивность во время теста с постепенно возрастающей физической нагрузкой до истощения;  $W_{\text{пик}}$ , мгновенная пиковая выходная мощность во время теста Вингейта; LLM, масса нежировых тканей нижних конечностей;  $W_{\text{средн}}$ , средняя выходная мощность во время 30 с теста Вингейта; накопленный  $VO_2$ , общее количество потребляемого  $O_2$ ; % анаэробной энергии, процент энергии, полученной анаэробными путями.

Таблица 1

	Мужчины (n=17)	Женщины (13)	P
Возраст (годы)	22,7±2,1	27,0±2,2	0,005
Рост (см)	176,9±4,2	164,4±4,6	0,000
Масса (кг)	71,2±5,2	56,5±5,4	0,000
% жира тела	18,4±3,7	26,0±4,9	0,000
Масса нежировых тканей обеих ног (кг)	19,8±2,0	13,6±2,5	0,000
Гемоглобин (г.дл <sup>-1</sup> )	15,0±0,8	13,2±0,9	0,000
ЧСС <sub>макс</sub> (удары/мин)	191,7±7,5	189,3±0,7	0,567
VO <sub>2</sub> <sub>макс</sub> (мл/кг/мин)	47,5±6,1	41,2±6,1	0,005
VO <sub>2</sub> <sub>макс</sub> (мл/кг LLM/мин)	171,1±16,3	170,4±15,7	0,921
W <sub>макс</sub> (W)	259,1±32,7	177,7±38,0	0,000
<b>Тест с постоянной интенсивностью при 120% VO<sub>2</sub><sub>макс</sub></b>			
Период выносливости (с)	150,4±40,1	132,0±40,3	0,168
120% VO <sub>2</sub> <sub>макс</sub> интенсивность (W)	303,8±36,6	216,6±40,5	0,000
Работа (кДж.кг <sup>-1</sup> LLM)	2,30±0,60	1,98±0,60	0,086
Дефицит O <sub>2</sub> (мл)	3362±839	1880±848	0,000
Дефицит O <sub>2</sub> (мл.кг <sup>-1</sup> BW)	47,2±11,6	33,4±11,4	0,001
Дефицит O <sub>2</sub> /LLM	169,3±35,9	137,9±34,1	0,011
% Анаэробной энергии	33,6±6,3	32,1±5,8	0,527
<b>30 с тест Вингейта</b>			
W <sub>пик<sub>i</sub></sub>	1087,1±86,5	753,0±93,4	0,000
W <sub>пик<sub>i</sub></sub> /кг	15,3±1,2	13,4±1,2	0,000
W <sub>пик<sub>i</sub></sub> /LLM	55,4±6,0	55,3±6,5	0,979
W <sub>средн</sub>	628,0±65,6	417,3±77,0	0,000
W <sub>средн</sub> /кг	8,8±0,8	7,4±0,9	0,000
W <sub>средн</sub> /кг LLM	31,9±3,1	30,7±3,0	0,270

Состав тела объектов определяли с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (Lunar iDXA, GE Healthcare, Висконсин; США). Объекты были протестированы на определение пикового потребления кислорода (VO<sub>2</sub> пик), максимальной частоты сердечных сокращений (ЧСС<sub>макс</sub>) и максимальной выходной мощности (W макс) при нормоксии (F<sub>I</sub>O<sub>2</sub>: 0,21, P<sub>I</sub>O<sub>2</sub>: 143 мм рт.ст.) с помощью теста с постепенно возрастающей физической нагрузкой до истощения. Тест начинался с 3 мин при 20 Вт с последующим увеличением на 15 и 20 Вт каждые 3 мин у женщин и мужчин соответственно до тех пор, пока дыхательный коэффициент (ДК) не становился >1,0.

После завершения интенсивности с ДК≤1,0 интенсивность увеличивали на 10 и 15 Вт/мин (женщины и мужчины соответственно) до истощения. Интенсивность, достигнутая при истощении, была принята при максимальной выходной мощности теста с постепенно возрастающей физической нагрузкой (W макс). При истощении с эргометра снимали нагрузку, и объекты оставались сидеть на велоэргометре, вращая педали на медленной скорости (30-40 об/мин) в течение 3 мин. После этого верификационный тест начинался при W макс+5 Вт в течение 1 мин с последующим увеличением на 4 и 5 Вт (для женщин и мужчин соответственно) каждые 20 с до истощения. Спустя 1-2 недели объекты дважды отправлялись в лабораторию с интервалом, по меньшей, 1 неделю для проведения сверхмаксимальных нагрузок постоянной интенсивности до истощения при 120% VO<sub>2</sub> макс. Данный тест использовали для определения анаэробной способности. Тест сверхмаксимальных нагрузок постоянной интенсивности с более длительным периодом выносливости до истощения сохраняли как характерный для каждого объекта. Данные по испытуемым объектам представлены в табл. 2.

В. Выходная мощность, потребление кислорода и потребность и дефицит O<sub>2</sub> при сверхмаксималь-



ной нагрузке

Выходную мощность во время спринта выражали как мгновенную пиковую выходную мощность ( $W$  пик) и среднюю выходную мощность ( $W$  средн) на протяжении всех спринтов. Потребление кислорода измеряли с помощью метаболической тележки, откалиброванной в соответствии с сертифицированными газами высокого качества. Респираторные показатели анализировали по дыхательным циклам и усредняли каждые 20 с во время тестов с постепенно возрастающей физической нагрузкой и во время повторных спринтов. Наивысшее среднее значение  $VO_2$  за 20 с, зарегистрированное во время теста с постепенным возрастанием (т.е. включая фазу верификации), было принято за  $VO_2$  пик. Потребность в  $O_2$  во время спринтов была рассчитана на основе линейной зависимости между средним  $VO_2$  за последние 20 секунд для каждой нагрузки, от 80 Вт до 80-90% от  $VO_2$  макс, в то время как объекты крутили педали со скоростью 80 об/мин. Определяли накопленный дефицит кислорода (AOD), представляющий разницу между потребностью в  $O_2$  и  $VO_2$ .

Добровольцы были случайным образом распределены по трем курсам лечения на основе двойного слепого дизайна. Курс лечения А представлял собой лечение плацебо (500 мг мальтодекстрина в день); курс лечения В состоял из 140 мг экстракта листьев манго (ЭЛМ; 60% мангиферина) и 50 мг лютеолина в день; и курс лечения С содержал 140 мг ЭЛМ (60% мангиферина), 600 мг кверцетина и 350 мг экстракта земляного миндаля в день. Три курса лечения были разделены на три дневные дозы, вводимые каждые 8 ч в капсулах из метилцеллюлозы идентичного внешнего вида. Активные ингредиенты в экстрактах, исполняемых в исследуемых композициях, представлены в табл. 2

Таблица 2

	Экстракт <i>Mangifera Indica</i> <i>L.</i>	Экстракт <i>Arachis</i> <i>hypogaea</i>	Экстракт <i>Sophora</i> <i>japonica</i>	Экстракт <i>Cyperus</i> <i>esculentus</i>
Используемая часть растения	Листья	Скорлупа	Луковица, кожура	Высушенные клубни
Биоактивные соединения (% масс./масс.)	Мангиферин ( $\geq 60\%$ ) Гомомангиферин ( $\leq 2,5\%$ ) Изомангиферин (следовые количества) Сахара ( $\leq 10\%$ )	Лютеолин ( $\geq 90\%$ )	Кверцетин ( $\geq 90\%$ )	НАF <sup>a</sup> ( $\geq 5\%$ ) Глицерильный эфир олеиновой кислоты <sup>b</sup> (2:1) ( $\geq 91\%$ ) Глицерильный эфир линолевой кислоты <sup>b</sup> ( $\geq 7\%$ ) Стигмастерин <sup>b</sup> ( $\geq 0,2\%$ ) Мирицетин <sup>b</sup> ( $\geq 0,2\%$ ) Сахароза ( $\leq 30\%$ )
Влагосодержание (% масс./масс.)	$\leq 7\%$	$\leq 7\%$	$\leq 7\%$	$\leq 7\%$
Растительный или природный ингредиент (% масс./масс.)	Экстракт <i>Mangifera i.</i> (100%)	Экстракт <i>Arachis h.</i> (100%)	Экстракт <i>Sophora j.</i> (100%)	Экстракт <i>Cyperus e.</i> ( $\geq 50\%$ )
Неботанический ингредиент (% масс./масс.)	Нет	Нет	Нет	Картофельный мальтодекстрин ( $\leq 25\%$ ) Аравийская камедь ( $\leq 25\%$ )

<sup>a</sup> Высокоактивная фракция (НАF): фракция, растворимая в этилацетате

<sup>b</sup> Относительно количества НАF

Объекты начали прием добавок за 48 ч до основных дней эксперимента. В день эксперимента объ-

екты прибывали в лабораторию после 10 ч ночного голодания и за 60 мин до начала эксперимента, в котором приняли дополнительную дозу добавки (т.е. 1/3 суточной дозы). Объекты сидели на велоэргометрах и выполняли два разогревающих 8 с спринта в изокинетическом режиме при 80 об/мин, разделенных 2 мин интервалом (фаза восстановления 1), в течение которого они крутили педали с разгруженным велоэргометром, как показано на фиг. 1. После 3 мин периода вращения педалей без нагрузки после двух разогревающих спринтов (фаза восстановления 2) нагрузка была увеличена до 80 Вт для женщин и 100 Вт для мужчин в течение 6 мин (80 об/мин, эргометр установлен в независимом от частоты вращения режиме). За этим последовало вращение педалей без нагрузки в течение 5 мин (фаза восстановления 3).

После фазы восстановления 3 объекты переставали крутить педали, и эргометр был переключен в изокинетический режим. Затем объекты выполняли тест Вингейта (30 с спринт с максимальной интенсивностью в изокинетическом режиме при 80 об/мин; Спринт 1). За этим последовало еще 3,5 мин вращения педалей без нагрузки и еще один 30 с период, в течение которого они переставали крутить педали и эргометр переведен в изокинетический режим (фаза восстановления 4). Затем проводили второй 30 с тест Вингейта (Спринт 2), за которым также следовали еще 3,5 минуты вращения педалей без нагрузки и еще один 30 с период режима покоя (фаза восстановления 5), также как показано на фиг. 1. Через четыре мин после окончания второго теста Вингейта проводили 60 с продолжительный спринт с максимальной интенсивностью (Спринт 3). В конце 60 с спринта кровообращение в обеих нижних конечностях было мгновенно перекрыто на 20 с за счет накачивания двусторонних манжет при 300 мм рт.ст. Манжеты были размещены вокруг бедер во время фазы подготовки, как можно ближе к паховому сгибу, и были подсоединены к быстрому надуванию манжеты перед тем, как они были помещены на велоэргометр. Через десять секунд после начала окклюзии производился обратный отсчет, и объектам предлагали снова начать крутить педали как можно быстрее и сильнее с эргометром в изокинетическом режиме в течение 15 с (Спринт 4). В начале спринта манжета была спущена, чтобы обеспечить полное восстановление кровообращения во время последующей нагрузки. В конце 15 с спринта объекты медленно крутили педали еще 5 с и затем останавливались на 5 с, чтобы подготовиться к финальному 15 с спринту (Спринт 5). В течение 10 с восстановления, которые следовали за 15 с спринтом после ишемии, также как во время 15 с финального спринта кровообращение было открытым. Образец капиллярной крови брали из мочки уха для измерения концентрации лактата через 1 мин после последнего спринта.

Образцы крови получали из нагретой вены руки в состоянии покоя через 3 мин после второго 30 с теста Вингейта, через 1 мин после последнего спринта и 5 и 10 мин в период восстановления. Образцы были проанализированы на концентрацию гемоглобина, газы крови, электролиты и кислотно-щелочной баланс.

#### В. Церебральная оксигенация.

Церебральную оксигенацию оценивали в покое и во время нагрузки с использованием спектроскопии в ближней инфракрасной области, с использованием спектроскопии с пространственным разрешением для получения индекса оксигенации тканей (ТОI) с использованием фактора длины оптического пути 5,92. Оптоды NIRS размещали в правой лобно-теменной области на расстоянии 3 см от средней линии и на 2-3 см выше надглазничного гребня, чтобы избежать сагиттальной области и области лобной пазухи. Используя размещение данного оптода, регистрировали оксигенацию тканей поверхностной лобной коры головного мозга. Дополнительный оптод помещали в латеральную сторону бедра на средней длине между надколенником и передневерхним гребнем подвздошной кости, над средней частью латеральной широкой мышцы бедра. Скорость дезоксигенации мышц при окклюзии рассчитывали путем определения максимального наклона линейного спада ТОI с течением времени. Для этой цели данные усредняли каждую секунду и рассчитывали наклон ТОI/время от начала окклюзии до конца окклюзии с минимальным интервалом 4 с и максимальным 20 с. Поскольку наилучшую линейную аппроксимацию получали с интервалом 4 с, это применяли ко всем окклюзиям.

#### С. Скорость кровотока в средней мозговой артерии.

Среднюю скорость кровотока в средней мозговой артерии ( $MSAv_{\text{средн}}$ ) определяли как оценку мозгового кровотока. Два доплеровских датчика 2 МГц накладывали билатерально на среднее транстемпоральное окно, и показания датчиков усредняли. Для минимизации возможных артефактов движения использовали повязку на голову. Церебральную оксигенацию в состоянии покоя и  $MSAv_{\text{средн}}$  рассчитывали как среднее значение за 2 мин периода сбора данных, в то время как средние значения во время нагрузки 5 с формировали и сообщали среднее значение за весь спринт.

#### Д. Выходная мощность.

Все предварительные тесты проводили на одном и том же велоэргометре, который поддерживает постоянную интенсивность нагрузки, несмотря на различия в скорости вращения педалей. Во время всех тестов объектов просили поддерживать скорость вращения педалей, близкую к 80 об/мин. Изокинетический эргометр использовали для определения выходной мощности. Эргометр работал при постоянной нагрузке, не зависящей от частоты вращения, во время периодов разминки и восстановления, и его переключали в изокинетический режим во время спринтов со скоростью, установленной на 80 об/мин. Во время изокинетических спринтов объекты крутили педали как можно быстрее и сильнее, прикладывая к педалям столько усилий, сколько они могли, при каждом нажатии педали от начала до конца спринта.

Тормозная система с сервоуправлением непрерывно регулировала тормозное усилие, чтобы поддерживать скорость вращения педалей 80 об/мин в течение всего спринта. Истощение определяли неспособностью объекта поддерживать скорость вращения педалей выше 50 об/мин в течение 5 с или внезапным прекращением вращения педалей.

#### Д. Потребность и дефицит кислорода.

Потребность в  $O_2$  во время сеансов сверхмаксимальной физической нагрузки оценивали по линейной зависимости между последним минимальным средним  $VO_2$  каждой нагрузки, от 20 до 40 Вт до высшей интенсивности с  $DK < 1,00$  в тесте с постепенно возрастающей нагрузкой. Определяли накопленный дефицит кислорода (AOD), представляющий разницу между потребностью в  $O_2$  и  $VO_2$ .

#### Е. Оценка боли и эффективность сокрытия.

Объектов просили оценить уровень боли, ощущаемой во время окклюзии, от 0 до 10, при этом 10 представляет собой самую сильную мышечную боль, когда-либо испытываемую во время или после нагрузки в их жизни. В конце эксперимента объектов спросили о том, какой вид добавки, по их мнению, они получали для проверки эффективности сокрытия. После приема плацебо 7 из 30 объектов правильно догадались, что они получали плацебо. После приема добавки В 11 объектов из 30 правильно догадались, что они получали полифенолы, и после приема добавки С 16 из 30 правильно догадались, что они получали полифенолы. Обычно объекты предполагали, что они принимали полифенолы, когда чувствовали себя лучше в течение всего эксперимента.

#### Ф. Результаты

В этом исследовании мужчины и женщины имели сопоставимые уровни физического состояния. У мужчин  $VO_2$  макс на кг массы тела был на 15% выше, чем у женщин, но разница между полами исчезала, когда  $VO_{2max}$  был выражен на кг массы нежировых тканей нижних конечностей. У мужчин анаэробная способность была на 41% выше, чем у женщин на кг массы тела, но эта разница уменьшилась до 23%, если выразить это по отношению к массе нежировых тканей нижних конечностей. Никаких существенных различий между полами не наблюдали в тесте Вингейта, когда значения были нормализованы к массе нежировых тканей нижних конечностей.

##### 1. Влияние на работоспособность

Добавки В (мангиферин+лютеолин) и С (мангиферин+кверцетин+экстракт земляного миндаля) улучшили производительность во время Спринта 3 (60-секундный спринт) по сравнению с плацебо. Кроме того, добавка С улучшила производительность во время Спринта 3 и Спринта 4 (первый 15-секундный спринт) по сравнению с плацебо и во время Спринта 4 по сравнению с добавкой В.

Пиковая выходная мощность ( $W$  пик), наблюдаемая во время спринтов фиг. 1 для мужчин и женщин, зарегистрирована на фиг. 2 и табл. 3. Как видно из табл. 3,  $W$  пик во время Спринта 3 у пациентов, которым вводили плацебо, составляла 617,9 Вт, в то время как средняя выходная мощность ( $W$  средн) во время Спринта 3 составляла 233,4 Вт. У пациентов, которым вводили добавку В,  $W$  пик увеличивалась до 695,1 Вт и  $W$  средн увеличивалась до 247,8 Вт; данные увеличения выходной мощности определяли как значимые ( $p < 0,05$  по сравнению с плацебо). У пациентов, которым вводили добавку С,  $W$  пик увеличивалась до 684,4 Вт и  $W$  средн увеличивалась до 249,0 Вт; данные увеличения выходной мощности также определяли как значимые ( $p < 0,05$  по сравнению с плацебо). Во время Спринта 3 не было значимой разницы между пациентами, получавшими добавку В, и пациентами, получавшими добавку С.

Таблица 3

	Спринт 1			Спринт 2			Спринт 3			Спринт 4			Спринт 5		
	W1 A	W1 B	W1 C	W2 A	W2 B	W2 C	W6 0A	W6 0B	W6 0C	W1 5A	W1 5B	W1 5C	W1 5F A	W1 5F B	W1 5F C
W <sub>пик</sub> (W) <sup>b</sup>	81 4, 9 18 5, 8	82 2, 8 20 7, 7	798 ,0 202 ,1	768 ,1 194 ,2	767 ,7 167 ,2	790 ,0 204 ,4	617 ,9 172 ,6	695 ,1* 207 ,4	684 ,4* 167 ,0	288 ,0 113 ,3	311 ,9 106 ,1	343, 9* 111, 2	385 ,3 135 ,0	421 ,0 142 ,0	430 ,4* 125 ,3
W <sub>сре</sub> дн (W) <sup>b</sup>	42 8, 5 10 1, 3	41 9, 0 98 ,8	414 ,3 98, 3	390 ,4 94, 5	383 ,7 92, 1	383 ,0 89, 6	233 ,4 62, 4	247 ,8* 66, 9	249 ,0* 58, 5	165 ,4 65, 6	172 ,5 53, 2	183, 9* 53,8	201 ,3 62, 5	207 ,7 51, 7	209 ,5 50, 4
ЧСС (удар. мин-1)	15 6, 6 13 ,6	15 5, 9 15 ,5	158 ,7 18, 4	158 ,6 15, 0	158 ,5 16, 6	161 ,0 15, 5	169 ,3 13, 5	168 ,5 14, 5	170 ,1 11, 4	173 ,3 15, 9	174 ,9 14, 2	176, 2 9,9	173 ,3 15, 7	175 ,0 16, 2	178 ,1 10, 1
VO <sub>2</sub> (мл/ мин)	10 06 ,3 22 7, 6	10 11 ,8 24 7, 4	101 0,4 213 ,3	106 5,7 254 ,4	106 3,6 255 ,9	105 7,9 236 ,4	241 5,1 578 ,8	242 6,2 604 ,6	242 9,1 567 ,0	540 ,1 160 ,9	549 ,2 161 ,7	550, 7 131, 9	635 ,7 185 ,5	641 ,9 181 ,5	644 ,4 193 ,0

VC	20	20	202	213	212	211	241	242	242	216	219	220	254	256	257
O <sub>2</sub>	12	23	0,8	1,3	7,3	5,7	5,1	6,2	9,1	0,3	7,0	2,8	2,8	7,5	7,5
(мл/мин)	,5	,7	426	508	511	472	578	604	567	643	646	527,	741	725	772
	45	49	,7	,8	,7	,9	,8	,6	,0	,7	,7	7	,9	,8	,2
	5,	4,													
	2	7													
O <sub>2</sub>	16	16	160	136	137	133	810	927	768	57,	75,	90,8	63,	70,	76,
деф	11	01	5,5	7,1	8,4	2,3	,0	,2	,1	0	9	*	5	2	2
ицит	,5	,0	495	456	445	440	427	531	432	94,	142	108,	115	120	123
(мл)	52	53	,1	,8	,9	,2	,2	,7	,3	6	,9	5	,7	,7	,4
	0,	6,													
	6	4													
ДК	1,	1,	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	0,9	0,9	1,1	1,1	1,16	1,0	1,0	1,0
	02	04	2	3	4	3	7	8	6	6	8	0,07	4	5	7
	0,	0,	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,1
	11	11	1	8	7	9	7	7	5	9	8		8	6	2
ВЛ	78	79	76,	98,	99,	98,	112	113	111	118	121	117,	121	122	123
(л/м	,2	,2	9	9	6	0	,2	,2	,6	,8	,9	1	,1	,5	,3
ин)	22	22	23,	23,	25,	28,	29,	30,	30,	35,	33,	37,0	36,	35,	36,
	,5	,1	1	7	7	0	4	3	5	0	4		7	3	8
Р <sub>ЕТ</sub> O <sub>2</sub>	11	11	112	119	119	119	119	120	120	122	122	119,	119	119	120
	5,	4,	,6	,7	,7	,3	,8	,1	,0	,6	,9	5	,9	,9	,5
(мм	5	6	11,	3,2	3,1	4,7	2,9	2,6	2,8	2,6	2,4	17,1	2,4	2,5	2,7
рт.	5,	4,	9												
ст.)	3	6													
Р <sub>ЕТ</sub> С	29	30	29,	25,	25,	26,	24,	24,	24,	24,	24,	24,3	25,	25,	25,
O <sub>2</sub>	,0	,5	9	6	9	3	2	1	4	6	7	4,5	7	7	7
(мм	3,	3,	4,3	2,3	2,5	3,5	2,5	2,2	2,5	2,6	2,2		2,5	2,5	2,7
рт.	7	7													
ст.)															

W пик, пиковая выходная мощность; W средн, средняя выходная мощность; ЧСС, частота сердечных сокращений; VO<sub>2</sub>, потребление кислорода; VCO<sub>2</sub>, выработка CO<sub>2</sub>; ДК, дыхательный коэффициент; ВЛ вентиляция легких; Р<sub>ЕТ</sub>O<sub>2</sub>, давление O<sub>2</sub> в конце спокойного выдоха; Р<sub>ЕТ</sub>CO<sub>2</sub>, давление CO<sub>2</sub> в конце спокойного выдоха; W1, первый тест Вингейта (30 с спринт); W2, второй тест Вингейта (30 с спринт); W60, 60 с спринт; W15, 15 с спринт после ишемии; W15F, финальный 15 с спринт; лечение, лечебный эффект. А, плацебо; В, лютеолин+мангиферин; С, мангиферин+кверцетин+экстракт земляного миндаля.

P<0,05 по сравнению с плацебо; P<0,05 по сравнению с лечением В.

Также, как видно из табл. 3, W пик во время Спринта 4 (первый 15-секундный спринт) у пациентов, которым вводили плацебо, составляла 288,0 Вт, в то время как W средн во время Спринта 4 составляла 165,4 Вт. У пациентов, которым вводили добавку В, W пик увеличивалась до 311,9 Вт и W средн увеличивалась до 172,5 Вт; однако данные увеличения были незначимыми по сравнению с плацебо. У пациентов, получавших добавку С, W пик увеличивалась до 343,9 Вт и W средн увеличивалась до 183,9 Вт. Было определено, что увеличения выходной мощности у пациентов, получавших добавку С во время Спринта 4, были значимыми по сравнению с плацебо (p<0,05). Кроме того, различия как в пиковой, так и средней выходной мощности между пациентами, получавшими добавку В, и пациентами, получавшими добавку С, были определены как значимые (p<0,05). Во время Спринта 5 пациенты, получавшие добавку С, также показали статистически значимое увеличение пиковой выходной мощности по сравнению с пациентами, получавшими плацебо (p<0,05).

Во время 60 с продолжительного спринта добавки В и С увеличивали W пик на 12,5 и 10,8% соот-

ветственно. В Спринте 4, проводимом после ишемии, добавка С увеличивала W пик на 19,4% по сравнению с плацебо ( $p < 0,001$ ) и на 10,2% по сравнению с добавкой В ( $p < 0,05$ ). Общий объем выполненной работы был на 2,4% выше после приема добавок В и С по сравнению с плацебо у женщин ( $34,1 \pm 4,3$ ,  $34,9 \pm 4,1$  и  $34,9 \pm 4,0$  кДж для плацебо и добавок В и С соответственно,  $p < 0,05$ ). Соответствующие значения у мужчин составили  $51,7 \pm 6,7$ ,  $52,1 \pm 7,3$  и  $52,3 \pm 5,8$  кДж соответственно ( $p > 0,3$ ). Во время спринта, проводимого после ишемии (Спринт 4), добавка С увеличивала W средн на 11,2% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с испытанием плацебо и на 6,7% по сравнению с добавкой В ( $p = 0,012$ ). Как видно из фиг. 3, добавка В значительно увеличивала среднюю выходную мощность во время Спринта 4 для женщин. Добавка С значительно увеличивала среднюю выходную мощность во время Спринта 4 как для мужчин, так и для женщин.

#### 2. Газообмен в легких.

У женщин пик  $\dot{V}O_2$ , достигнутый во время повторных спринтов, был на 5,8% больше после приема добавок (среднее значение в обоих испытаниях) по сравнению с исследованием плацебо ( $2189 \pm 334$  и  $2316 \pm 403$  мл/мин для плацебо и добавок соответственно,  $P = 0,012$ ). У мужчин такого эффекта не наблюдали ( $3265 \pm 406$  и  $3318 \pm 422$  мл/мин, плацебо и добавки соответственно,  $P = 0,42$ ). Исследуемый дефицит  $O_2$  был в 2,7 раза больше после приема добавки С, чем после приема плацебо у мужчин ( $P = 0,001$ ), в то время как у женщин он оставался на том же уровне.

Ни накопленный  $\dot{V}O_2$ , ни дефицит  $O_2$ , наблюдаемый во время спринтов, существенно не изменились ни при одном из курсов лечения, когда все спринты анализировали совместно. Тем не менее, в течение 15 с спринта, проводимого после ишемии (Спринт 4), индекс оксигенации латеральной широкой мышцы бедра имел тенденцию быть несколько более низким значением после введения добавки С по сравнению с плацебо ( $P = 0,056$ ), как показано на фиг. 5.

#### 3. Оксигенация головного мозга.

Оксигенация головного мозга в состоянии покоя у женщин была ниже, чем у мужчин ( $P < 0,001$ ). Это было связано с более низким значением  $P_{Et}CO_2$  (концентрация  $CO_2$  в конце выдоха, мм рт.ст.) у женщин, чем у мужчин ( $30,7 \pm 2,6$  и  $34,2 \pm 2,1$  мм рт.ст. у женщин и мужчин соответственно,  $P < 0,001$ ). У женщин обе добавки увеличивали оксигенацию лобных долей в состоянии покоя ( $59,4 \pm 5,7$ ,  $64,9 \pm 3,8$  и  $64,9 \pm 6,4\%$  для плацебо, добавки В и добавки С соответственно,  $P < 0,05$ , для сравнения добавки В и С в отношении плацебо). У мужчин оксигенация головного мозга оставалась по существу неизменной ( $69,3 \pm 5,4$ ,  $69,1 \pm 4,2$  и  $68,0 \pm 4,4\%$  для плацебо, добавки В и добавки С соответственно,  $P > 0,50$  по сравнению с добавкой В и С в отношении плацебо).

У женщин оксигенация головного мозга во время спринтов была выше после приема добавок В и С, чем плацебо (фиг. 4). Аналогичным образом, во время 20 с восстановления после ишемии, которое последовало за 60 с продолжительным спринтом (спринт 3), оксигенация головного мозга была выше после приема добавок В и С у женщин, чем у мужчин ( $57,7 \pm 7,2$ ,  $63,1 \pm 6,0$  и  $64,0 \pm 4,8\%$  для плацебо и добавок В и С соответственно,  $P < 0,05$ ; для сравнения добавок В и С с плацебо,  $P = 0,05$ ). Соответствующие значения у мужчин существенно не изменялись при приеме добавок ( $68,0 \pm 3,8$ ,  $67,9 \pm 5,7$  и  $66,3 \pm 4,3\%$  для плацебо и добавок В и С соответственно; для сравнения добавок В и С с плацебо,  $P > 0,30$ ).

Пример 2. Исследования на пациентах-людях: экспериментальная методика.

#### А. Объекты.

Двенадцать здоровых студентов-физкультурников мужского пола (возраст =  $21,3 \pm 2,1$  года, рост =  $176,6 \pm 5,8$  см, масса тела =  $75,7 \pm 9,9$  кг, жировая масса тела =  $20,3 \pm 5,3\%$ ,  $\dot{V}O_2$  макс:  $3,69 \pm 0,47$  л/мин и  $49,4 \pm 8,2$  мл/(кг.мин)) согласились участвовать в этом исследовании (табл. 1). Перед тем, как стать добровольцами, объекты получали полную информацию в устной и письменной форме об экспериментах и возможных рисках, связанных с участием. Письменное согласие получали от каждого объекта. Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и одобрено Комитетом по этике Университета Лас-Пальмас-де-Гран-Канария (СЕИН-2016-02). Размер выборки, необходимый для выявления 5% улучшения работоспособности при статистической мощности 0,8 ( $\alpha = 0,05$ ) при условии, что коэффициент вариации для эргометрического теста ниже 5%, составлял восемь объектов. Чтобы учесть возможные исключения, в конечном итоге было набрано двенадцать объектов.

#### Общие методики

Критериями включения для участия в исследовании были: возраст от 18 до 35 лет; мужчина без хронических заболеваний и недавнего хирургического вмешательства; некурящий; нормальная электрокардиограмма в состоянии покоя; индекс массы тела ниже 30 и выше 18; отсутствие в анамнезе заболеваний, требующих лечения продолжительностью более 15 дней в течение предшествующих 6 месяцев; отсутствие медицинских противопоказаний к нагрузочным пробам и отсутствие аллергии на арахис или плоды манго. Все обратившиеся добровольцы соответствовали критериям включения.

После включения в исследование проводили анамнез, электрокардиограмму в состоянии покоя, анализ крови, включая оценку базовой гемограммы и общей биохимии, и базовый анализ мочи для проверки состояния здоровья участников. Затем объектов распределяли на контрольное плацебо-испытание или лечебное испытание с двойным слепым перекрестным дизайном. Шесть объектов были случайным

образом распределены в группу плацебо (P) и еще шесть - в группу лечения (T). Группа плацебо получала капсулы из микрокристаллической целлюлозы, содержащие 500 мг мальтодекстрина, в то время как группа лечения получала аналогичные капсулы, содержащие лютеолин и мангиферин. Суточные дозы были для трех объектов (50 мг лютеолина и 100 мг мангиферина; группа лечения низкой дозой; LT) и для трех других (100 мг лютеолина и 300 мг мангиферина; группа лечения низкой дозой; LT). Объекты принимали добавки каждые три часа в течение пятнадцати дней, затем через 4-6 недель, группы лечения получали плацебо, и группа плацебо снова была разделена на группы лечения с низкой и высокой дозой, также в течение 15 дней.

Через сорок восемь часов после начала приема добавок объекты прибыли в лабораторию рано утром натощак и получили дополнительную дозу назначенных добавок. После этого их состав тела определяли с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (Lunar iDXA, General Electric, Висконсин, США) с последующей оценкой их скорости метаболизма в состоянии покоя (BMR). Затем оптоды спектроскопии в ближней инфракрасной области (NIRS) помещали на лобную долю и латеральную широкую мышцу бедра, как сообщалось ранее (Curtelin D, Morales-Alamo et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 271678X17691986, 2017). Когда объекты лежали на спине, манжету шириной 10 см, подключенную к быстрому компрессору (SCD10, Hokanson, Белью, США), помещали вокруг правого бедра как можно проксимальнее, и нога приподнималась на 3 мин. По истечении трех мин кровообращение перекрывали на 8 мин, и манжету снимали, и в течение следующих двух минут измеряли гиперемический ответ. После этого была проведена катетеризация вены предплечья и образец крови в состоянии покоя брали перед началом протокола нагрузки.

#### Протокол нагрузки

Протокол нагрузки начинался с 8 с изокINETического спринта на велоэргометре (Excalibur Sport 925900, Lode, Гронинген, Нидерланды) (фиг. 6). Данный спринт использовали в качестве контроля для получения мгновенной пиковой выходной мощности ( $W_{\text{пик-и}}$ ) в состоянии покоя. За этим последовал период восстановления, в течение которого объекты крутили педали на низкой скорости (~40 об/мин) без нагрузки. Затем применяли тест с постепенным возрастанием для определения максимальной способности к окислению жира (MFO) (см. ниже). За тестом MFO следовали две мин вращения педалей без нагрузки и затем нагрузку увеличивали до уровня, достигнутого в конце теста MFO, и увеличивали на 15 Вт каждую мин до истощения, чтобы определить  $VO_2$  макс. Сразу после истощения манжеты мгновенно надували с максимальной скоростью и давлением (т. е. 300 мм рт.ст.), чтобы полностью перекрыть кровообращение (ишемия), как сообщалось ранее (Morales-Alamo D, Losa-Reyna et al. *J Appl Physiol* (1985) 113: 917-928, 2012). Через 10 с после начала ишемии брали образец крови из вены предплечья. В период ишемии объекты остаются сидеть на велосипеде тихо и не крутить педали. Через 60 с окклюзия была мгновенно снята, и объектов попросили проводить спринт как можно быстрее и интенсивнее в течение 15 с. В конце спринта начинали вторую окклюзию на 30 с, за которыми следовали 10 с свободного кровообращения, и объекты готовились к еще одному 15 с спринту, который проводили после цикла ишемии (30 с) и 10 с (реперфузии). Через пять секунд после окончания этого спринта брали образец крови из предплечья, и через 2,5 мин другой образец крови брали из гиперемированной мочки уха для измерения концентрации лактата в крови (Lactate Pro, Akray), и объектам предоставляли отдых в течение 30 мин. Первые 20 мин они отдыхали лежа на кровати и последние 10 ехали на низкой скорости на велоэргометре. На 29-й мин этого периода восстановления брали образец крови. После завершения восстановления проводили тест Вингейта (спринт продолжительностью 30 с) с последующим четырехминутным периодом восстановления, когда объекты крутили педали на низкой скорости с разгруженным велоэргометром. В конце этого короткого восстановления проводили второй тест Вингейта. За вторым тестом Вингейтом последовало 10 мин восстановления, когда объекты крутили педали на низкой скорости с разгруженным велоэргометром. На 2,5-й мин брали образец крови из гиперемированной мочки уха для измерения концентрации лактата в крови с последующим взятием образца крови из предплечья на 9-й мин этого периода восстановления. После завершении 10 мин периода восстановления, испытание на время до истощения с субмаксимальной постоянной интенсивностью начинали при 70% интенсивности, достигнутой при истощении в тесте с постепенно возрастающей нагрузкой, используемом для измерения  $VO_{2\text{макс}}$  или  $W_{\text{макс}}$  интенсивности. В контрольных экспериментах объекты исследования могли поддерживать такую интенсивность в течение 20-60 мин в состоянии покоя, в зависимости от их физического состояния. Этот тест использовали для оценки влияния на выносливость, поскольку тест начинается с очень низких уровней гликогена, воспроизводя условия последних километров типичного соревнования на выносливость. При истощении кровообращение в обеих ногах снова было перекрыто на 60 с. Образец крови брали из вены предплечья в начале окклюзии (5-я с). На 60-й с окклюзия была мгновенно снята, и объектов попросили выполнить последний спринт Вингейта (30 с). В конце этого спринта объекты оставались сидеть на велосипеде, в то время как крутя педали на низкой скорости с разгруженным велоэргометром. Через 2,5 мин получали еще один образец крови из гиперемированной мочки уха для измерения лактата в крови. Затем объекты перемещались в кровать и отдыхали до 30-й мин после окончания последнего теста Вингейта, и в этот момент времени получали последний образец крови (фиг. 6).

Данный протокол нагрузки повторяли через 15 дней приема добавок, чтобы определить потенци-

альные эффекты в результате систематического приема добавок. Через 4-6 недель острая и хроническая фазы повторялись, следуя перекрестному дизайну, описанному выше.

Выходная мощность и  $\text{VO}_2$  макс.

Выходная мощность во время спринта указывается как мгновенная пиковая мощность ( $W$  пик-1) и как средняя выходная мощность, достигнутая в течение всей продолжительности спринтов  $W$  средн-8 и  $W$  средн 30). Потребление кислорода измеряли с помощью откалиброванной метаболической тележки (Vyntus; Carefusion-BD, Мадрид, Hospital Hispania). Респираторные показатели анализировали по дыхательным циклам и усредняли каждые 5 с во время спринтов. Во время максимальной нагрузки было сгенерировано 15 дыхательных циклов, начиная с 120 с до конца нагрузки, и наивысшее среднее значение за 15 вдохов было принято в качестве  $\text{VO}_2$  макс.

Церебральная оксигенация и оксигенация латеральной широкой мышцы бедра.

Церебральную оксигенацию оценивали с использованием спектроскопии в ближней инфракрасной области (NIRS, NIRO-200, Hamamatsu, Япония), с использованием спектроскопии с пространственным разрешением для получения индекса оксигенации тканей (TOI) с использованием фактора длины оптического пути 5,92 (Van der Zee P et al. *Adv Exp Med Biol* 316: 143-153, 1992). Оптоды NIRS размещали в правой лобно-теменной области на расстоянии 3 см от средней линии и на 2-3 см выше надглазничного гребня, чтобы избежать сагиттальной области и области лобной пазухи. Используя размещение данного оптода, регистрировали оксигенацию тканей поверхностной лобной коры головного мозга. Данная область орошается передней мозговой артерией, которая, как и СМА, получает свой поток от внутренней сонной артерии. Как СМА, так и передние мозговые артерии сообщаются через виллизиев круг. Дополнительный оптод помещали в латеральную сторону бедра на средней длине между надколенником и передневерхним гребнем подвздошной кости, над средней частью латеральной широкой мышцы бедра.

Максимальное окисление жиров.

Этот тест проводили на том же велоэргометре, начиная с 20 Вт, и нагрузку увеличивали на 20 Вт каждые 3 мин (1, 69). Тест MFO с проворачиванием руки начинали при 10 Вт в течение 5 мин с последующим увеличением на 10 Вт каждые 3 мин. Тест MFO на ноге начинали при 30 Вт в течение 5 мин с последующим увеличением на 30 Вт каждые 3 мин. В конце 3 мин периода, в течение которого объект демонстрировал  $\text{DK} > 1,0$ , упражнение прекращали.

Эффективность физической активности, потребность в  $\text{O}_2$  и дефицит кислорода при сверхмаксимальной нагрузке.

Потребность в  $\text{O}_2$  во время спринтов рассчитывали на основе линейной зависимости между усредненным  $\text{VO}_2$  за последние 60 с для каждой нагрузки, измеренным во время MFO. Накопленный дефицит кислорода (AOD), представляющий разницу между потребностью в  $\text{O}_2$  и  $\text{VO}_2$ , определяли, как сообщалось ранее (Calbet JA, Chavarren J, and Dorado C. *Eur J Appl Physiol* 76: 308-313, 1997., Dorado C, Sanchis-Moysi J, and Calbet JA *Can J. Appl Physiol* 29: 227-244, 2004). Энергетическую эффективность физической нагрузки определяли, как сообщалось ранее (Chavarren J, and Calbet JA. *Eur J Appl Physiol* 80: 555-563, 1999), используя данные, собранные во время тестов MFO.

Анализ питания.

Информацию о питании собирали у всех объектов до начала приема добавки и после одной недели каждого периода приема добавки с использованием журналов для регистрации питания, включая четыре дня. Для этой цели объектам предоставили дневник для регистрации питания и кухонные весы (точность 1 г от 0 до 5000 г, откалиброваны в лаборатории авторов изобретения с калибровочной массой класса точности M1, Schenk) и инструкции для отчета в граммах обо всей принятой пище и напитках. Записанная информация позже была проанализирована с помощью специального программного обеспечения для испанской диеты (Dial, Alce Ingenieria, Мадрид, Испания (Ortega RM. et al. *Eur J Clin Nutr* 61: 77-82, 2007).

Образцы крови.

Образцы крови по десять мл получали в каждой точке отбора проб, и обрабатывали для получения сыворотки и плазмы, и немедленно замораживали при  $-80^\circ\text{C}$ . На этих образцах будет проведен дальнейший анализ, включая концентрацию карбонилированных белков в качестве маркера для окислительного стресса с использованием набора для окисления белков "OxyBlot" (Intergen Company, Перчейз, Нью-Йорк), как описано ранее (Morales-Alamo D et al. *J Appl Physiol* 113: 917-928, 2012, Romagnoli M et al. *Free Radic Biol Med* 49: 171-177, 2010).

Статистика.

Показатели проверяли на нормальное распределение с использованием критерия Шапиро-Уилка. При необходимости анализ проводили по логарифмически преобразованным данным. Сначала применяли тест ANOVA с двойными повторными измерениями по времени (два уровня: острый и хронический) и лечение еще двумя уровнями (плацебо по сравнению с лечением). Парные сравнения проводили с использованием наименее значимого апостериорного критерия (LSD). Сравнение между высокой и низкой дозой также проводили с использованием анализа повторных измерений с уровнями доз в качестве фактора между объектами с двумя уровнями (низкий и высокий). Связь между показателями определяли с использованием линейного регрессионного анализа. Значения представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего (если не указано иначе).  $P < 0,05$  считалось значимым. Статистический анализ проводи-



ли с использованием SPSS v.15.0 для Windows (SPSS Inc., Чикаго, Иллинойс).

#### Результаты

Полифенолы не оказали значительного влияния на клинические анализы гемограммы и биохимии крови. Диета не была значительно изменена лечением в отношении приема общей энергии, макроэлементов, витаминов, пищевых волокон и растительных стеролов. Аналогичным образом, не наблюдалось никаких значительных изменений в концентрации лактата в крови в состоянии покоя, скорости метаболизма в состоянии покоя или в составе тела. Тем не менее, частота дыхания в состоянии покоя и  $P_{ET}CO_2$  в состоянии покоя были немного увеличены и уменьшены соответственно от первой ко второй оценке (табл. 1). Вмешательство не изменило артериальное давление в состоянии покоя, концентрацию лактата в крови и частоту сердечных сокращений.

Тест с постепенно возрастающей физической нагрузкой.

Все респираторные показатели реагировали одинаково на лечение плацебо и полифенолами. Показатели максимальной тестов также были схожими, что указывает на то, что объекты выполняли одинаковые упражнения во всех тестах. Лечение не повлияло ни на  $VO_2$  макс, ни на нагрузку, достигаемую при истощении ( $W$  макс). Во втором тесте наблюдалось небольшое улучшение  $P_{ETO2}$  на 2 мм рт.ст., которое также сопровождалось небольшим снижением  $P_{ETCO2}$  (~2 мм рт.ст.).

Лактатная реакция на субмаксимальную нагрузку была почти одинаковой. Хотя концентрация лактата в крови при 200 Вт была на 11% ниже после лечения полифенолом, этот эффект не достигал статистической значимости ( $P=0,11$ ). Дельта-эффективность временно улучшилась через 48 ч после начала приема полифенолов в группе, получавшей более низкую дозу ( $P=0,002$  по сравнению с плацебо; лечение  $\times$  время  $\times$  взаимодействие дозы,  $P=0,001$ ) (табл. 1). Этот эффект исчезал после 15 дней приема добавок ( $P=0,87$  по сравнению с плацебо). Прием добавок полифенолов не повлиял ни на MFO (табл. 1), ни на пиковую ЧСС.

Спринтерская нагрузка после ишемии/реперфузии.

$РРО_i$  не изменялся при однократном введении полифенолов (фиг. 2А). После пятнадцати дней приема добавок  $РРО_i$  в спринтах, которым предшествовала ишемия, составлял  $500,0 \pm 120,1$  и  $566,4 \pm 141,9$  Вт в испытании плацебо и полифенолов соответственно,  $P=0,11$ . Тем не менее, от первого (48 ч) до второго испытания (15 дней)  $РРО_i$  увеличился на 22%, когда объекты принимали полифенолы ( $P<0,05$ ), при этом данный эффект был более заметным в первом (+31%), чем во втором спринте (+14%) (первый спринт по сравнению со вторым спринтом,  $P<0,05$ ) (спринт ANOVA  $\times$  испытание  $\times$  лечение  $\times$  взаимодействие доз,  $P=0,026$ ). Не было значительных различий между более высокими и более низкими дозами полифенолов на  $РРО_i$ .

В спринтах после ишемии, проводимых с полифенолами, средняя выходная мощность, развиваемая в течение первых 5 с, была увеличена на 23% от 48 ч ( $272,5 \pm 63,8$  Вт) до 15 дней ( $333,8 \pm 93,2$  Вт) ( $P=0,01$ ). Напротив, в условиях плацебо не наблюдалось никаких значительных изменений в период от 48 ч до 15 дней (фиг. 2В). Пик лактата в крови, измеренный через 2,5 мин после постишемии последнего спринта, не изменялся в экспериментах с плацебо ( $9,8 \pm 2,7$  и  $10,4 \pm 2,1$  мМ,  $P=0,35$ ), но увеличился от  $9,5 \pm 2,5$  до  $11,4 \pm 1,8$  мМ (48 ч и 15 дней соответственно) после приема полифенолов ( $P=0,04$ ; время  $\times$  взаимодействие при лечении,  $P=0,29$ ).

Фигура 7.

Тесты Вингейта.

По сравнению с плацебо потребление полифенолов привело к увеличению MPO на 4,0% (объединенные оценки острых и хронических заболеваний,  $P=0,017$ ; ANOVA Wingate  $\times$  время  $\times$  лечение,  $P=0,027$ ). По сравнению с плацебо введение полифенолов резко увеличивало MPO на 5% во втором тесте Вингейта ( $P=0,009$ ) (фиг. 7С). Это сопровождалось усилением оксигенации головного мозга (фиг. 8) (эффект лечения,  $P=0,02$ ), при этом данный ответ был больше для более высокой дозы (лечение  $\times$  взаимодействие доз,  $P=0,047$ ). Индекс оксигенации четырехглавой мышцы во время спринтерской нагрузки был значительно ниже после приема полифенолов как через 48 ч ( $59,7 \pm 6,0$  и  $57,9 \pm 6,4\%$ ,  $P=0,007$ ), так и через 15 дней ( $60,1 \pm 3,9$  и  $57,0 \pm 6,1\%$ ,  $P=0,007$ ) приема добавки (лечение  $\times$  взаимодействие доз,  $P=0,01$ ) (фиг. 9).

Последний спринт проводили после испытания на время до истощения, за которым следовала 60 с ишемия в ситуации крайней усталости и истощения энергетических ресурсов. Через 48 ч приема добавок MPO было на 15% выше в группе, получавшей полифенолы, чем в группе плацебо ( $P=0,04$ ). Не наблюдалось значительных различий ни в индексе оксигенации головного мозга во время последнего теста Вингейта ( $65,8 \pm 8,6$  и  $68,5 \pm 7,2\%$ , для испытаний плацебо и полифенолов соответственно,  $P=0,38$ ), ни в индексе оксигенации четырехглавой мышцы ( $57,1 \pm 6,7$  и  $55,8 \pm 9,0\%$  для испытаний плацебо и полифенолов соответственно,  $P=0,22$ ).

Не наблюдалось значительных различий в средних ответах на лактат после постепенно возрастающей нагрузки и трех тестов Вингейта ( $10,3 \pm 2,4$  и  $11,1 \pm 2,3$  мМ для испытаний плацебо и полифенолов соответственно,  $P=0,15$ ).

Последнее испытание на время.

Никаких значительных эффектов не наблюдалось в общей работе, проводимой во время последнего

испытания на время ( $101,3 \pm 56,6$  и  $103,5 \pm 61,6$  кДж для испытания плацебо и полифенолов соответственно,  $P=0,85$ ). Ни индекса оксигенации головного мозга ( $64,6 \pm 6,5$  и  $68,0 \pm 6,0\%$  для исследования плацебо и полифенолов соответственно,  $P=0,18$ ), ни индекса оксигенации четырехглавой мышцы ( $61,3 \pm 6,3$  и  $60,6 \pm 8,5\%$  для исследования плацебо и полифенолов соответственно,  $P=0,34$ ).

Извлечение  $O_2$  из четырехглавой мышцы во время ишемии.

В течение первых пяти секунд окклюзии четырехглавой мышцы индекс оксигенации снижался до более низких уровней после приема полифенолов ( $P=0,04$ , фиг. 9).

Данный пример показывает, что комбинация экстракта листьев манго, богатого мангиферином, с лютеолином улучшает физическую работоспособность во время спринтерской нагрузки и способствует извлечению мышечного кислорода в утомленном состоянии. Кроме того, эта полифенольная комбинация улучшает работу мышц после ишемии/реперфузии за счет двух основных механизмов. Во-первых, она способствует экстракции мышечного кислорода, о чем свидетельствует наибольшее снижение индекса оксигенации мышц в течение первых пяти секунд полной окклюзии кровообращения. Во-вторых, она может способствовать выработке АТФ за счет дополнительного задействования гликолиза, на что указывают более высокие уровни концентрации лактата в крови, наблюдаемые при спринтах, проводимых после ишемии/реперфузии. Важно отметить, что ЭЛМ и лютеолин увеличивали среднюю выходную мощность во время длительных спринтов (30 с тест Вингейта), проводимых после 30 мин восстановления. Это улучшение работоспособности при продолжительном спринте сопровождалось улучшением оксигенации головного мозга и увеличением экстракции мышечного кислорода во время спринтов.

Экстракт листьев манго в комбинации с лютеолином улучшает извлечение мышечного  $O_2$ . В данном примере авторы изобретения показали, что добавка ЭЛМ+лютеолин позволяет скелетным мышцам достичь более низких уровней оксигенации тканей. Этот эффект можно объяснить уменьшением доставки скелетного мышечного  $O_2$ , лучшим микроваскулярным распределением перфузии (уделяя приоритетное внимание активным волокнам скелетных мышц) и усиленным извлечением  $O_2$  из митохондрий. Поскольку эффект ЭЛМ+лютеолин был сильнее во время второго теста Вингейта, то есть, когда ожидается, что кровоток в скелетных мышцах увеличится быстрее до более высокого уровня, снижение доставки  $O_2$  к работающим мышцам является маловероятным. Более того, тот факт, что реакция ЧСС не различалась при приеме добавок, также свидетельствует против различий в регуляции сердечно-сосудистой системы в зависимости от состояния. Второе объяснение соответствия между перфузией и  $VO_2$  на микрососудистом уровне не может быть проверено с помощью современных технологий во время нагрузки на все тело у людей. Таким образом, наиболее вероятным механизмом, посредством которого добавка полифенолов могла повысить извлечение  $O_2$ , является улучшение митохондриального дыхания, которое может быть нарушено высокими уровнями активных форм кислорода и азота (АФКА), образующихся во время повторяющейся спринтерской нагрузки.

Экстракт листьев манго в комбинации с лютеолином улучшает работоспособность во время спринта после ишемии/реперфузии. Работоспособность во время спринта после ишемии/реперфузии улучшалась, особенно после первой ишемии, за которой сразу последовал спринт, в то время как эффект был менее заметен во время второго 15 с спринта, которому предшествовали 30 с ишемии и 10 с активного восстановления с реоксигенацией. В настоящем исследовании ингибирующее действие ЭЛМ+лютеолина на ХО могло быть полезным во время нагрузки высокой интенсивности, ишемии и ишемии/реперфузии за счет снижения выработки супероксида и вторичных АФКА и ослабления выработки NO из нитрита и, следовательно, ингибирования митохондриального дыхания. Следовательно, ЭЛМ+лютеолин мог облегчить митохондриальное дыхание и аэробную выработку энергии во время периодов спринтов и ишемии, о чем на самом деле свидетельствуют более низкие уровни оксигенации мышц, наблюдаемые в данном исследовании, когда экспериментам предшествовал прием полифенолов.

Введение мангиферина в комбинации с лютеолином увеличивает оксигенацию лобных долей во время повторяющейся спринтерской нагрузки.

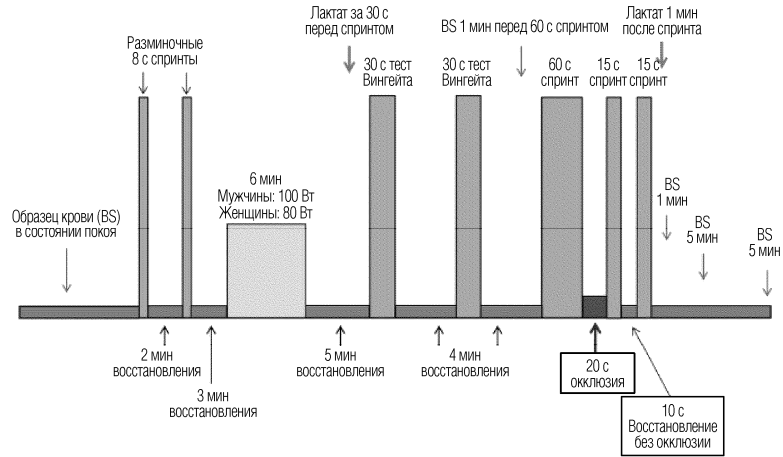
Лучшая оксигенация лобных долей наблюдалась во время длительных спринтов, проводимых после приема ЭЛМ+лютеолина. Эти эффекты могут быть связаны с лучшим распределением кровотока между тканями или усиленной церебральной вазодилатацией, чему способствуют полифенолы.

Подводя итог вышесказанному, добавка экстракта листьев манго в комбинации с лютеолином повышает работоспособность при спринтерской нагрузке, вероятно, за счет улучшения оксигенации головного мозга и увеличения извлечения мышечного кислорода.

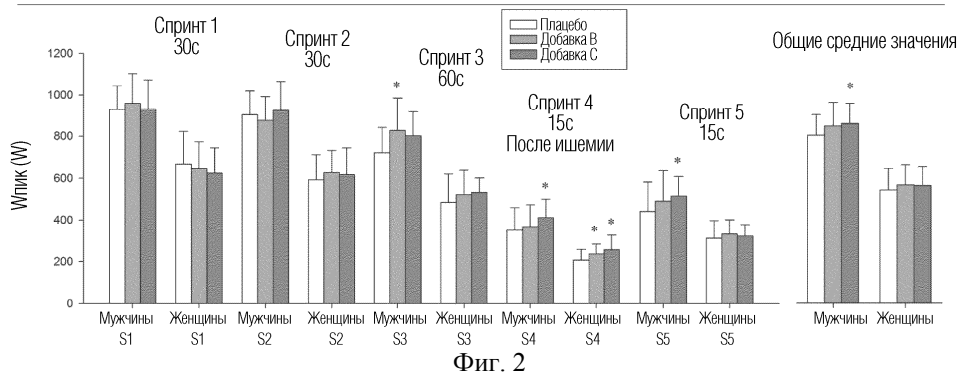
Хотя различные примерные варианты осуществления были подробно описаны с конкретной ссылкой на их определенные примерные аспекты, следует понимать, что изобретение допускает другие варианты осуществления, и его детали допускают модификации в различных очевидных отношениях. Как легко очевидно специалисту в данной области техники, могут быть затронуты варианты и модификации, в то время как оставаясь в пределах сущности и объема изобретения. Соответственно вышеприведенное раскрытие, описание и фигуры предназначены, только для иллюстративных целей и никоим образом не ограничивают изобретение, которое определяется только формулой изобретения.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

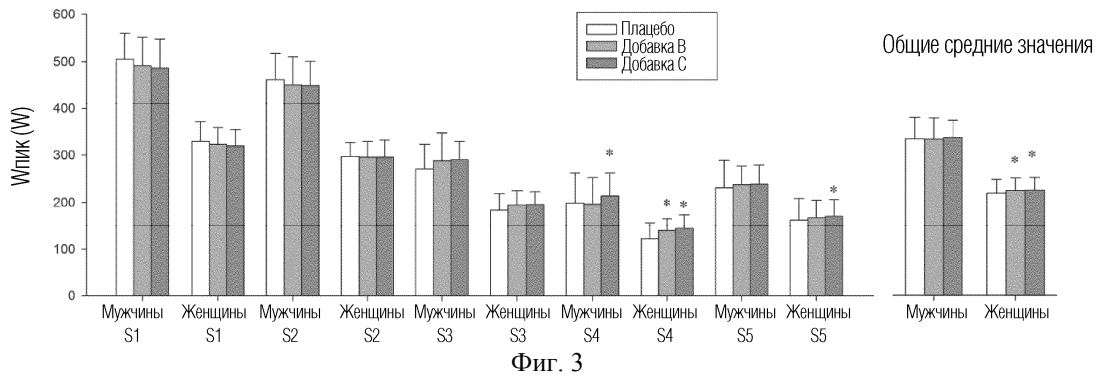
1. Нетерапевтическое применение состава, содержащего эффективное количество мангиферина в комбинации с эффективным количеством активного ингредиента, выбранного из группы, состоящей из лютеолина, кверцетина, этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus* и их смесей;  
для повышения выходной мощности.
2. Применение по п. 1, состав дополнительно содержит носитель.
3. Применение по п. 1, в котором состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося.
4. Применение по любому одному из пп. 1-3, в котором указанный состав содержит от 5 до 1000 частей мангиферина в комбинации с любым из:  
от 2 до 1000 частей лютеолина,  
от 20 до 2000 частей кверцетина,  
от 1 до 1000 частей этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus* или с их смесями и необязательно носитель.
5. Применение по любому одному из пп. 1-4, в котором указанный состав содержит от 50 до 5000 мг мангиферина в комбинации с любым из:  
от 10 до 5000 мг лютеолина;  
от 100 мг до 10 г кверцетина;  
от 50 до 5000 мг этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus* или с их смесями и необязательно носитель.
6. Применение по любому одному из пп. 1-5, в котором состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося и в котором указанный атлет, спортсмен или тренирующийся является женщиной.
7. Применение по любому одному из пп. 1-6, в котором состав предназначен для повышения выходной мощности у атлета, спортсмена или тренирующегося, в котором выходная мощность измеряется исходя из пиковой выходной мощности или средней выходной мощности.
8. Применение по любому одному из пп. 1-7, в котором состав также предназначен для повышения оксигенации лобных долей головного мозга или пикового потребления кислорода у атлета, спортсмена или тренирующегося женского пола.
9. Применение по любому одному из пп. 1-8, в котором состав также предназначен для смягчения влияния повреждения при ишемии/реперфузии.
10. Применение по п. 9, в котором состав также предназначен для смягчения влияния повреждения при ишемии/реперфузии скелетных мышц.
11. Применение по п. 1, в котором указанный состав содержит от 50 до 5000 мг мангиферина и от 10 до 5000 мг лютеолина.
12. Применение по любому одному из пп. 1-11, в котором состав содержит от 50 до 5000 мг мангиферина; от 100 мг до 10 г кверцетина и от 5 мг до 5000 мг этилацетатного экстракта клубней *Cyperus esculentus*.
13. Применение по любому одному из пп. 1-12, в котором указанный мангиферин представляет собой компонент экстракта *Mangifera indica*, при этом указанный экстракт *Mangifera indica* содержит от 10 до 90 мас.% мангиферина.
14. Применение по любому одному из пп. 1-13, в котором указанный лютеолин представляет собой компонент экстракта *Arachis hypogaea*, при этом указанный экстракт *Arachis hypogaea* содержит от 50 до 95 мас.% лютеолина.
15. Применение по любому одному из пп. 1-14, в котором указанный кверцетин представляет собой компонент экстракта *Sophora japonica*, при этом указанный экстракт *Sophora japonica* содержит от 50 до 95 мас.% кверцетина; и указанный этилацетатный экстракт клубней *Cyperus esculentus* содержит глицеридовые эфиры олеиновой кислоты, глицеридовые эфиры линолевой кислоты или их комбинацию;  
фитостерины;  
флавоноиды и  
их смеси.
16. Применение по любому одному из пп. 1-15, в котором указанный состав представляет собой единичную лекарственную форму для однократного введения.
17. Применение по любому одному из пп. 1-15, в котором указанный состав представляет собой множественные лекарственные формы, которые являются такими, что первая лекарственная форма содержит мангиферин и вторая лекарственная форма содержит лютеолин, кверцетин, этилацетатный экстракт клубней *Cyperus esculentus* или их смесь.



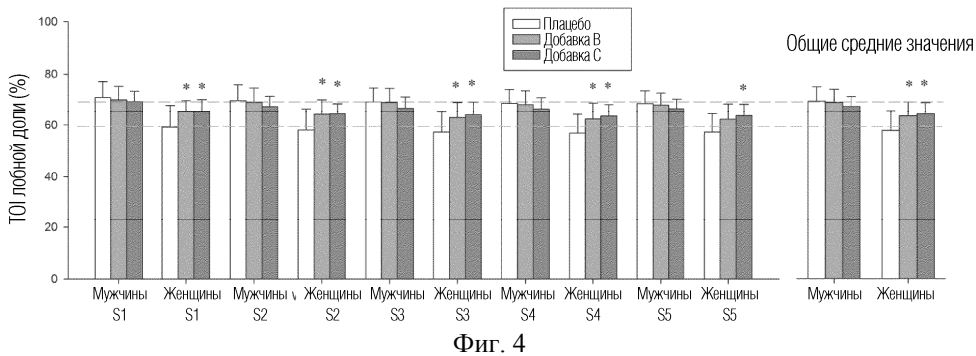
Фиг. 1



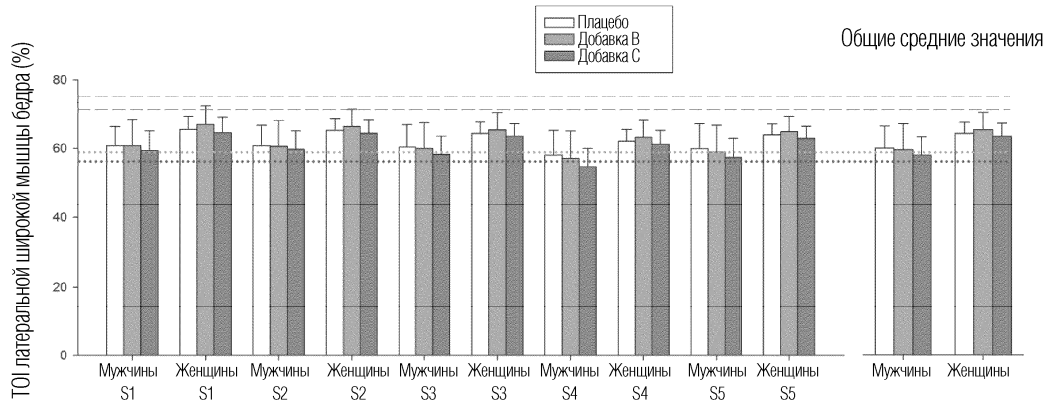
Фиг. 2



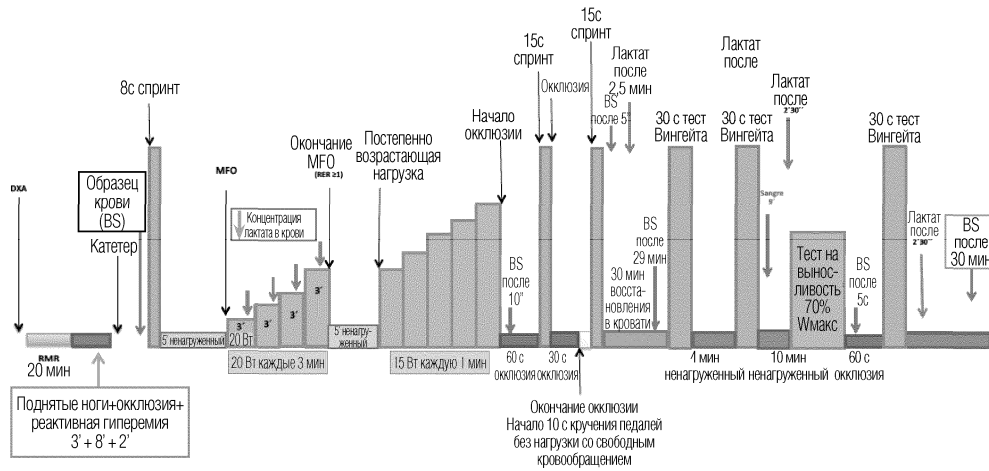
Фиг. 3



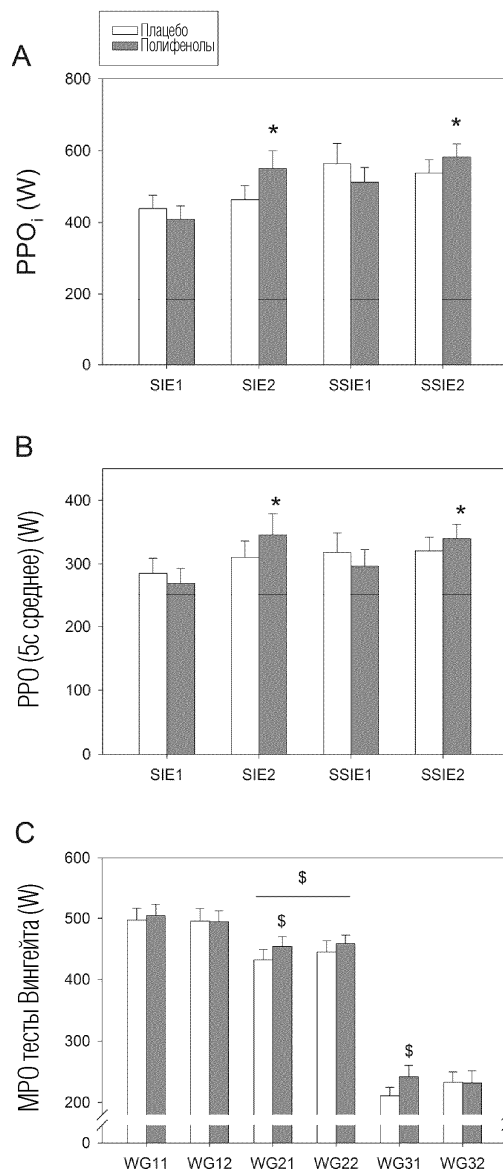
Фиг. 4



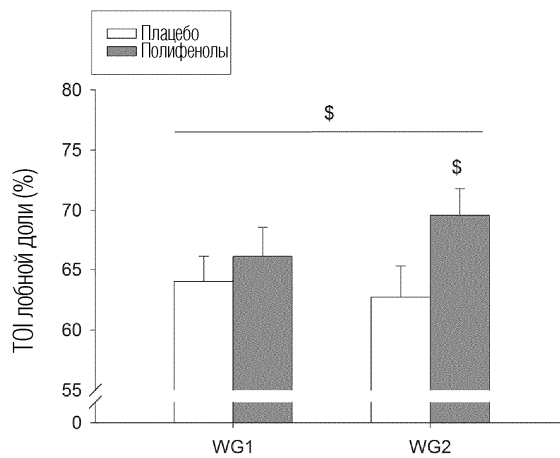
Фиг. 5



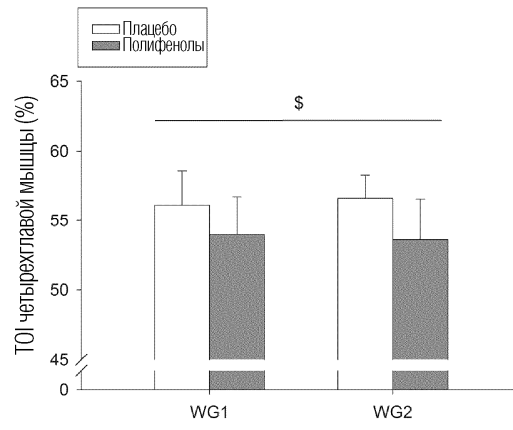
Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9

